

学 位 論 文 要 旨

チャノコカクモンハマキに感染する
殺虫速度の異なる核多角体病ウイルスの比較病理学
Comparative pathology of nucleopolyhedroviruses
that kill *Adoxophyes honmai* larvae at different speeds

生物生産科学専攻 生物制御科学大講座
齋藤 康将

農業の現場において、害虫の防除には化学合成殺虫剤を用いた化学的防除が広く行われている。しかしながら、これまでに 325 種類の化学合成殺虫剤に対して 586 種の昆虫に抵抗性が報告されている。適切な害虫の薬剤抵抗性管理を実現するためには、化学的防除だけでなく、生物的防除、物理的防除、あるいは耕種的防除など複数の防除法を合理的に組合わせた総合的有害生物管理の実現が望まれる。バキュロウイルスは昆虫に特異的な環状二本鎖 DNA ウイルスであり、殺虫活性の高さ、人畜を含めた環境への安全性などから化学合成殺虫剤に代わる生物的防除資材（ウイルス農薬）として利用されている。

チャノコカクモンハマキ (*Adoxophyes honmai*) (チョウ目：ハマキガ科) はチャの重要害虫であり、多くの化学合成殺虫剤に対して抵抗性を獲得している難防除害虫である。チャノコカクモンハマキには殺虫速度の異なる核多角体病ウイルス、*Adoxophyes honmai* nucleopolyhedrovirus (AdhoNPV) および *Adoxophyes orana* nucleopolyhedrovirus (AdorNPV) が感染する。これらのウイルスはチャノコカクモンハマキの防除のため新たな生物防除資材の候補として重要である。

本研究では、AdhoNPV および AdorNPV の病理学的特性を比較し、両ウイルスに共通の宿主制御機構を明らかにし、また、殺虫時間決定に関わる要因を推定した。

第 1 章においては、AdhoNPV および AdorNPV に感染した宿主の致死時間およびウイルスの増殖速度を生物検定により比較した。AdhoNPV 感染虫はウイルス接種齢によらず、すべて終齢（5 齢）で致死したが、AdorNPV 感染虫はウイルス接種齢、あるいは 1 回脱皮後に致死した。2 齢幼虫にウイルスを接種し

た場合、AdorNPV は AdhoNPV に比べて 8 日早く宿主を致死させた。2 齢ウイルス接種幼虫における両ウイルスの DNA の増殖量を調査した結果、AdhoNPV 感染虫と比較して、AdorNPV 感染虫では「ウイルス DNA の増殖速度」が有意に大きく、「感染後に生産される次世代ウイルス DNA 量」は有意に小さくなることが明らかとなった。このことから、殺虫時間を決定する要因としてウイルスの増殖速度が関与している可能性が示唆された。

昆虫の変態は 2 つのホルモン、Juvenile hormone (JH) および Ecdysteroid (E) により調整されており、蛹化の誘導には JH の代謝および E の分泌が必要である。終前齢である 4 齢幼虫にウイルスを接種すると、AdhoNPV も AdorNPV も終齢期において宿主の蛹化を阻害し、幼虫で致死を引き起こす共通の表現型を示す。第 2 章においては、ウイルス感染虫における JH 代謝について調査した。JH の代謝は主に 2 つの酵素、JH esterase と JH epoxide hydrolase により行われる。ウイルス非感染虫(健全虫)においては、終齢期に JH esterase 遺伝子の発現が増加し、JH esterase 活性が上昇したが、JH epoxide hydrolase 活性は上昇しなかった。このことから、チャノコカクモンハマキの蛹化の誘導には JH epoxide hydrolase 活性は関与せず JH esterase の活性上昇が重要であることが示された。一方、AdhoNPV および AdorNPV 感染虫においては健全虫でみられた JH esterase 遺伝子の発現および JH esterase 活性の上昇がみられなかった。このことから、ウイルス感染虫における蛹化阻害は、JH esterase による JH 代謝の抑制が原因であることが明らかとなった。

多くのバキュロウイルスのゲノムには、宿主の E に UDP-glucose を修飾することで E の活性を不活化する ecdysteroid UDP-glucosyltransferase(EGT) をコードする遺伝子 (*egt*) が保存されている。AdhoNPV および AdorNPV も *egt* を保持している。両ウイルスの *egt* が終齢期における蛹化阻害に関与するかを調査するために、第 3 章において、ウイルス感染虫における *egt* の発現および EGT の分泌の有無を調査した。終前齢である 4 齢幼虫にウイルスを接種した場合、*egt* の発現時期と EGT の検出時期には、両ウイルス間で違いは見られなかった。

第 4 章においては、Illumina® MiSeq を用いた RNA-Seq を行い、ウイルスの全遺伝子発現解析および宿主の遺伝子発現ライブラリを作製した。2 齢および 4 齢幼虫にウイルスを接種し、接種 120 時間後の幼虫を供試して RNA-Seq を行った。その結果、AdhoNPV および AdorNPV 感染虫においてはウイルスの全 ORF の発現が確認された。また、各 ORF について RPKM(Reads Per Kilobase of exon Model per million mapped reads) 値の算出および Fisher の正確確率検定による解析を行ったところ、両ウイルス感染虫において発現量の異なる ORF が複数存在することが明らかとなった。